SENSITIVITAS METODE *REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) UNTUK DETEKSI DNA BABI DALAM LEMAK

SKRIPSI

Oleh :

RATIH AZI SUNDARI
B.1410338

JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
FAKULTAS ILMU PANGAN HALAL
UNIVERSITAS DJUANDA BOGOR
BOGOR
2019

SENSITIVITAS METODE *REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) UNTUK DETEKSI DNA BABI DALAM LEMAK

Oleh :

RATIH AZI SUNDARI
B.1410338

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Teknolgi Pangan** pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda Bogor

UNIVERSITAS DJUANDA
KAMPUS BERTAUHID

JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
FAKULTAS ILMU PANGAN HALAL
UNIVERSITAS DJUANDA BOGOR
BOGOR
2019

Judul Skripsi	: Sensitivitas Metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR)* Untuk Deteksi DNA Babi Dalam Lemak
Nama	: Ratih Azi Sundari
NIM	: B.1410338
Program Studi	: Teknologi Pangan
Jurusan	: Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas	: Ilmu Pangan Halal

Disetujui Oleh,

Dr.Ir. Mardiah., M.Si	Aminullah, S.TP., M.Si	Raafqi Ranasasmita, M.Biomed
Pembimbing I	Pembimbing II	Pembimbing III

Disahkan Oleh,
Dekan Fakultas Ilmu Pangan Halal
Universitas Djuanda Bogor

Ir. Amar Ma'ruf. M.Si
NPP. 213 870 080

Tanggal Lulus : 7 Desember 2018

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul "**Sensitivitas *Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR)* Untuk Deteksi DNA Babi Dalam Lemak**" adalah benar-benar hasil karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai karya ilmiah pada perguruan tinggi atau lembaga manapun. Sumber referensi dari hasil kutipan karya penulis lain dilakukan dengan benar dan disebutkan dalam teks dan daftar pustaka. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian yang berjudul "**Verifikasi Halal Menggunakan FTIR dan PCR Pada Lemak Babi Dalam Makanan Olahan Dengan Berbagai Metode Ekstraksi Lemak**" Skim Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi (PKPT) yang dibiayai oleh Menristek Dikti dengan kontrak Penelitian No.0826/K4/KM/2018 tahun anggaran 2018. Dengan arahan dosen pembimbing kecuali dengan jelas yang ditunjukkan rujukannya.

Bogor, 7 Desember 2018

Ratih Azi Sundari
B.1410646

UNIVERSITAS DJUANDA
BOGOR
KAMPUS BERTAUHID

ABSTRACT

RATIH AZI SUNDARI. B.1410338. Sensitivity of Real-Time Polymerase Chain Reaction Method to Detect Pig DNA in Fat Sample. Supervised by Mardiah, Aminullah, and Raafqi Ranasasmita.

Real-Time PCR is a method that is commonly used to detect DNA content due to its sensitivity. Currently, it has also been applied in analyzing contamination of porcine DNA in food that will affect its halal status. The purpose of this study was to determine the detection limit and sensitivity of *Real-Time* PCR in a sample containing a mixture of raw pork fats, chicken fats and beef fats. The mixtures concentrations various pork fat concentration, from 0,1%; 1,0%; and 10,0%. We used fat with various processing conditions, from raw samples, burned (t = 2-3 minutes, T = 73-80 ° C), fried (t = 1-2 minutes, T = 160 ° C), to steamed sample (t = 30 minutes, T = 100 ° C). The result shows Real-Time PCR sensitivity to detect 0,1% pork fat content with Cq value 20,494-23,804, in all processing conditions. It can be concluded that *Real-Time* PCR is a very effective and sensitive tool for identifying DNA in a mixture of animal fat both raw and in products that have been processed.

Keywords: limit detection, DNA, Real-Time PCR, Pork fat, cooking process

UNIVERSITAS IBN KHALDUN BOGOR
KAMPUS BERTAUHID

ABSTRAK

RATIH AZI SUNDARI. B.1410338. Sensitivitas Metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Deteksi DNA Babi Dalam Lemak. Dibawah bimbingan Mardiah, Aminullah, dan Raafqi Ranasasmita.

Real-Time PCR merupakan metode yang cukup umum digunakan dan sangat sensitif dalam mendeteksi kandungan DNA untuk mengetahui kehalalan pangan dengan menggunakan sampel berbasis protein. Saat ini PCR sudah dikembangkan dalam menganalisa kehalalan produk pangan yang mengandung lemak dengan mendeteksi DNA yang terdapat didalam lemak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui batas deteksi dan sensitivitas *Real-Time* PCR pada campuran lemak babi, ayam dan sapi mentah dan dengan beberapa kondisi pengolahan. Sensitivitas dilakukan dengan sampel mentah, dibakar (t= 2-3 menit, T= 73-80°C), digoreng (t=1-2 menit, T= 160°C), dan dikukus (t= 30 menit, T= 100°C) pada campuran lemak babi, lemak sapi dan lemak ayam dengan konsentrasi lemak babi 0,1%; 1%; dan 10%. *Real-Time* PCR mampu mendeteksi penambahan lemak babi sampai pada konsentrasi lemak babi 0,1% dengan nilai Cq 20,494-23,804 tanpa adanya pengaruh kondisi pengolahan. Dari analisis yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa *Real-Time* PCR adalah alat yang sangat efektif dan sensitif untuk mengidentifikasi DNA pada campuran lemak hewan baik mentah maupun dalam produk yang telah dilakukan pengolahan.

Kata kunci: Batas deteksi, DNA, *Real-Time* PCR, lemak babi, proses pengolahan.

BOGOR
KAMPUS BERTAUHID

PRAKATA

Alhamdulillah, puji serta syukur kehadirat Allah S.W.T. karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun laporan skripsi yang berjudul berjudul "**Sensivitas Metode Real-Time *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Deteksi DNA Babi Dalam Lemak"**. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan Desember 2018, bertempat di Laboratorium Sains dan Laboratorium Pangan Universitas Djuanda Bogor, Laboratorium LPPOM MUI Bogor dan Laboratorium Genetika Molekuler Ternak Institut Pertanian Bogor. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda Bogor.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Ir. Amar Ma'ruf, M.Si selaku Dekan dan Dosen Fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor.
2. Ibu Dr. Ir. Mardiah, M.Si selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah membimbing dan memberikan arahan dengan penuh kesabaran.
3. Bapak Aminullah, S.TP M.Si selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah membimbing dan memberikan arahan dengan penuh kesabaran.
4. Bapak Raafqi Ranasasmita, M.Biomed selaku Pembimbing 3 yang telah membimbing dan memberikan arahan dengan penuh kesabaran.
5. Ibu Tiana Fitrilia S.Pd, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Universitas Djuanda Bogor.
6. Seluruh Dosen Fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor yang telah memberikan ilmu serta pelajaran yang berharga. Semoga ilmu yang diberikan menjadi berh dan bermanfaat bagi kita semua. Amiin
7. Ibu Siti Raden Nurlaela, S.TP dan Ibu Intan Kusumaningrum M.Si selaku Kepala Laboratorium Sains dan Laboratorium Pangan Universitas Djuanda Bogor.
8. Bapak Dede Djuanda, Pak Agus, kak Iskandar selaku Staff Laboratorium Sains dan Laboratorium Pangan Universitas Djuanda Bogor.

9. Seluruh Staff Tata Usaha fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor.
10. Semua pihak Universitas Djuanda yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dan bekerjasama dalam studi sampai teselesaikannya laporan ini.
11. Staff LPPOM MUI Bogor khususnya Mas Zul dan Mas Ulwan yang telah membantu penulis dan bekerja sama sampai terselesaikannya laporan ini.
12. Direktorat Jendral Perguruan Tinggi (DIKTI) yang telah memberikan dana hibah untuk penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaaaan, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan kemajuan penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bogor, 7 Desember 2018

Penulis

UNIVERSITAS DJUANDA BOGOR KAMPUS BERTAUHID

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini. Penulis juga menyampaikan terimakasih atas bantuan moril dan materil kepada:

1. Seluruh keluarga tercinta terutama ibu, bapak, Ramah dan Raga yang senantiasa mendoakan dan memberi semangat yang tiada henti-hentinya selama mengerjakan penelitian ini.
2. Seluruh anggota keluarga cemara, Aulia Zahra, Siti Robiah, Erna Rostika, Nisrina Rifda, Mutia Ramadayanti, Gusti Pratiwi, Revina Fauziah dan Sartika yang selalu menyemangati dan memotivasi penulis dalam mengerjakan penelitian ini.
3. Ka Ayu, Ka Iki, Pak Bobi dari Alphasains yang telah sangat membantu dalam memfasilitasi penelitian ini.
4. Mbak Selvi, mbak Isyana, Dwi dan Hanifah yang telah membantu dalam proses penelitian.
5. Teman-teman FIPHAL 2014 yang selalu memberikan dukungan, canda tawa, serta suka duka selama penyusunan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ni masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan dan kemajuan di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penullis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bogor, 7 Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA vii

DAFTAR ISI x

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR LAMPIRAN xiii

I. PENDAHULUAN 1

A. Latar Belakang 1
B. Tujuan 3

II. TINJAUAN PUSTAKA.....4

A. Halal dan Lemak Hewan 4
B. Pengaruh Pengolahan Terhadap Lemak 5
C. DNA (*Deoxyribonucleat Acid*).....7
D. Ekstraksi DNA 8
E. *Polymerase Chain Reaction* 9
F. *Real-Time Polymerase Chain Reaction* 12

III. METODELOGI PENELITIAN 15

A. Bahan dan Alat 15
B. Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....15
C. Metode Penelitian.....15
D. Analisa Data 20

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 21

A. Pengolahan Campuran Lemak Babi, Sapi dan ayam 21
B. Ekstraksi DNA 21
C. Hasil Pengukuran Kemurnian dan Konsentrasi DNA.....23
D. Hasil Amplifikasi DNA.....26
E. Sensitivitas *Real-Time* PCR Terhadap Lemak dengan Berbagai Pengolahan 33

V. KESIMPULAN DAN SARAN 37

A. Kesimpulan 37
B. Saran 37

DAFTAR PUSTAKA 38

LAMPIRAN 43

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Susunan Basa Primer DNA Babi 15
2. Program Amplifikasi Real-Time PCR Mygo 18
3. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi 24
4. Nilai Cq Sampel Campuran Lemak Babi 10%; 1%; dan 0,1% 26
5. Nilai Tm Sampel Campuran lemak Babi 10%; 1%; dan 0,1% 29
6. Hasil Amplifikasi dan Nilai Cq Campuran Lemak Babi 10%; 1%; dan 0,1% 33
7. Pengujian Sensitivitas PCR Beberapa Penelitian Sebelumnya 34

UNIVERSITAS DJUANDA
BOGOR
KAMPUS BERTAUHID

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Struktur DNA 7
2. Kurva Amplifikasi *Real-Time* PCR 13
3. Diagram Alir Penelitian.....19
4. Kurva Melting Sampel Lemak Babi 10% 30
5. Kurva Melting Sampel Lemak Babi 1% 31
6. Kurva Melting Sampel Lemak Babi 0,1% 32

UNIVERSITAS DJUANDA
BOGOR
KAMPUS BERTAUHID